

D 1

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2001-505097

(P2001-505097A)

(43) 公表日 平成13年4月17日 (2001.4.17)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード* (参考)
A 6 1 L 27/00	Z N A	A 6 1 L 27/00	Z N A G
C 0 7 K 14/495		C 0 7 K 14/495	
19/00		19/00	
C 1 2 N 15/09		C 1 2 N 15/00	A
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 30 頁)			

(21) 出願番号 特願平10-523215
 (86) (22) 出願日 平成9年11月19日 (1997.11.19)
 (85) 翻訳文提出日 平成11年5月19日 (1999.5.19)
 (86) 国際出願番号 P C T / E P 9 7 / 0 6 4 6 3
 (87) 国際公開番号 W O 9 8 / 2 1 9 7 2
 (87) 国際公開日 平成10年5月28日 (1998.5.28)
 (31) 優先権主張番号 1 9 6 4 7 8 5 3 . 7
 (32) 優先日 平成8年11月19日 (1996.11.19)
 (33) 優先権主張国 ドイツ (D E)

(71) 出願人 バイオファーム ゲセルシャフト ツァー
 ル バイオテクノロジーシェン エントヴ
 イックラング フォン ファルマカ エム
 ベーハー
 ドイツ連邦共和国 ディー-69115 ハイ
 デルベルグ, ツェルニリング 22
 (71) 出願人 ゲロントカレ ゲーエムベーハー
 ドイツ連邦共和国 ディー-64354 ライ
 ンハイム, ロスベルグリング 107, バイ
 オマテリアルズ アンド メディカル デ
 ィバイシズ
 (74) 代理人 弁理士 平木 祐輔 (外2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 改良された軟骨誘導活性および/または硬骨誘導活性を有する複合体

(57) 【要約】

本発明は、軟骨誘導活性および/または硬骨誘導活性を有し、2つの成分AおよびBを含有する生体活性移植体材料に関し、Aは、硬骨誘導活性および/または軟骨誘導性のタンパク質もしくはタンパク質混合物(好ましくは、TGF- β スーパーファミリー由来の1種もしくは数種のタンパク質、好ましくはMP52)またはこれらをコードするDNA配列であり、Bは、連続マイクロ細孔を有しかつ既に単独で骨誘導性を備えたリン酸カルシウムセラミックスを含んでなる担体マトリックスである。本発明はまた、これらの複合体の製造、ならびに軟骨および/または硬骨に悪影響を及ぼす疾患の治療、更には軟骨および/または硬骨組織に対する損傷の治療のための該複合体の使用に関する。

4. 前記Bが、リン酸三カルシウムセラミックスを含有する生分解性または／および生体活性担体マトリックスであり、該リン酸三カルシウムセラミックスが、その体積の20～60%の範囲で連続マイクロ細孔を有する結晶学的に相純粋な α -または β -リン酸三カルシウムセラミックスを含み、かつそれ単独で既に骨誘導性を備えている請求項1～3のいずれか1項に記載の移植体材料。

5. 前記Bが、10～40 μ mの範囲の一次粒子サイズを有する結晶学的に相純粋な α -または β -リン酸三カルシウムセラミックスを含有する生分解性または／および生体活性担体マトリックスであり、水、血清、血漿、および血液のような好適な液体中に医療用として好適な懸濁液の形態で存在することにより、移植体中への巨大細胞または結合組織の浸潤は起こらない請求項4記載の移植体材料。

6. 注入可能な懸濁液の形態で存在する請求項4または5記載の移植体材料。

7. 前記Bが、骨貯蔵部においてBが化学的分解を起こす程度まで遅延制御されてAを放出(制御放出)する結晶学的に相純粋な α -または β -リン酸三カルシウムセラミックスを含有する生分解性および生体活性担体マトリックスである請求項4, 5, または6記載の移植体材料。

8. 前記タンパク質またはDNA配列Aが、生理学的に許容しうる水混和性溶剤または適切な溶剤混合物の溶液として、Aがマトリックスのマイクロ細孔構造の中および／または上に均一に分布するように生体適合性マトリックスBのマイクロ細孔構造中に適用される請求項1～7のいずれか1項に記載の生体活性移植体材料の製造方法。

9. 前記溶剤または溶剤混合物が、昇華により、好ましくは凍結乾燥により除去される請求項8記載の複合体の製造方法。

10. 好ましくは水またはエタノールである沈殿溶剤を添加して、溶剤から前記マトリックスB中にin situで沈殿させることにより、前記タンパク質またはDNA配列Aを濃縮する請求項8記載の複合体の製造方法。

11. 請求項1～7のいずれか1項に記載の移植体材料を、場合により、薬剤学的にも生理学的にも許容しうる補助物質、希釈剤、および／または充填剤と共に含んでなる医薬組成物。

12. 軟骨および／または硬骨に悪影響を及ぼす疾患の局所治療、または／お

【発明の詳細な説明】

改良された軟骨誘導活性および／または硬骨誘導活性を有する複合体

説明

本発明は、TGF- β ファミリーのうちの1種もしくは数種のメンバー(好ましくは、MP52)またはそれをコードするDNA配列を含み軟骨誘導活性および／または硬骨誘導活性を有する新しい改良された複合体、ならびに結晶学的に相純粋な(p hasc-pure)リン酸三カルシウムを含む特別な担体マトリックスに関する。本発明は更に、これらの複合体の製造、ならびに軟骨および／または硬骨に影響を及ぼす疾患の治療および軟骨および／または硬骨組織に対する損傷の治療のためのこれらの使用に関する。

TGF- β スーパーファミリーに由来する多くの増殖因子は、広範にわたる治療方法および特に創傷の治癒および組織の再構成に関連した用途に適用される。TGF- β スーパーファミリーのメンバーに関するレビューについては、例えば、Robert s, A.B. & Sporn, M.B. Handbook of Experimental Pharmacology 95 (1990) 419-472; Kingsley, D.M., Genes & Development 8 (1994) 133-146およびそれらの中で引用されている文献を参照されたい。このメンバーとしては、TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3、TGF- β 4、およびTGF- β 5のようなTGF- β タンパク質が挙げられるが、これについては、例えば、米国特許第5,284,763号; 欧州特許第0376785号; 米国特許第4,886,747号; Madisen, L. et al., DNA 7 (1988) 1-8; Derynck, R. et al., EMBO J. 7 (1988) 3737-3743; Jakowlew, S.B. et al., Mol. Endo. 2 (1988) 1186-1195; Kondaiah, P. et al., J. Biol. Chem. 265 (1990) 1089-1093を参照されたい。周知のアクチビン鎖 β A、 β B、 β C、および β Dを有するアクチビン／インヒビンは更なるスーパーファミリーを形成する。これについては、例えば、Mason, A.J. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 135 (1986) 957-964; Hotten, G. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 206 (1995) 608-613; Oda, S. et al., Biochem. Biophys. Res. Comm. 210 (1995) 581-588を参照されたい。GDF-12もまた、アミノ酸相同性があるためにこのスーパーファミリーに分類することがで

るが、これについては、Aono, A. et al.,

Biochem. Biophys. Res. Commun. 210 (1995) 670-677; WO 93/09229号; 欧州特許第0 626 451号を参照されたい。特に、TGF- β ファミリー、BMPファミリーおよびGDFファミリーのサブファミリーに属する多くメンバーは、軟骨誘導能および/または硬骨誘導能を有し、アクチビンファミリーのメンバーもまた、少なくとも他のTGF- β スーパーファミリーのメンバーと併用されると骨の形成に影響を与えることができる。これについては、例えば、Hock, J.M. et al., Endocrinol. 126 (1990) 421-426; Wang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87 (1990) 2220-2224; Wozney et al., Mol. Reprod. Dev. 32 (1992) 160-167; Sampath et al., J. Biol. Chem. 267 (1992) 20352-20362; Ogawa, Y. et al., J. Biol. Chem. 267 (1992) 14233-14237; WO 88/00205号; 米国特許第5,013,649号; WO 89/10409号; WO 90/11366号; WO 91/05802号; WO 92/15323号; WO 91/18098号; WO93/00432号; WO 93/09229号; WO 94/01557号; WO 94/26893号; WO 94/26892号; WO 94/15949号; WO 95/01801号; WO 95/01802号; および欧州特許第0 626 451号を参照されたい。個々のタンパク質の中には軟骨および硬骨の誘導の過程で異なる部位で作用するものがあるため、このようなタンパク質をいろいろと組み合わせることが軟骨および骨の誘導の効率を高めるうえで有利であろうと推定できる。このようなタンパク質の混合物もまた、本発明に含まれる。

TGF- β ファミリーのタンパク質(すなわち、MP52およびMP121)に対するDNA配列およびタンパク質配列については、WO 93/16099号、WO 95/04819号、およびWO 96/01316号に記載されている。MP121は、既に上述したアクチビン β Cである。軟骨誘導能および硬骨誘導能が既に判明しているMP52(出版物の中ではGDF5と呼ばれることもある)は、特に興味深い(WO 95/04819号およびHotten et al. Growth Factors 13 (1996) 65-74)。

軟骨誘導能および/または硬骨誘導能を有するTGF- β スーパーファミリーのメンバーは、成熟部分においてアミノ酸の類似性が高いことにより特性付けられ、TGF- β スーパーファミリーのメンバーに特有な7個の保存システインを有する。このスーパーファミリーのメンバーの活性形態は、一般的には常に、ホモ二量体

1., J. Materials Sci. 2 (1991) 63によれば、 α -TCPおよび β -TCPは顕著な生分解性を有する。HAの吸収は、生体環境では非常に少ない。Schuster, Heideらによる放射線標識された移植体材料を用いた実験(Battelle Institute Frankfurtの未発表報告)によれば、骨に貯蔵されているTCPは化学的に分解される

傾向を呈する。すなわち、分解および分解された産物の代謝は、骨破壊細胞(bone-degrading cell)が関与せずに行われるが、ヒドロキシルアパタイトの非常にゆっくりとした吸収は、骨破壊細胞(破骨細胞)の特異的な作用により依存したものである。

(d) TCPおよびHAをベースとした生体適合性リン酸カルシウムセラミックスは、特に前述のBattelleのワーキンググループにより1970年代に動物実験で印象的に示された結合組織による被包をほとんど伴うことなく骨貯蔵部に一体化される。その時に、この卓越した性質に対して「生体活性」という用語が導入された。

有望なリン酸カルシウムセラミックスの更なる開発中に、 $\text{CaO-P}_2\text{O}_5(+\text{H}_2\text{O})$ 系の複雑な結晶と化学との関連についての詳細な知識が系統立った最適化を行うための絶対的な前提条件であることが分かった。残念ながら、以前および現在においても、生分解性に乏しいHAをベースとした材料を、例えば、歯周ポケットの衛生管理のような典型的な一時的用途に使用する場合には特に、こうした前提条件を無視するユーザーが多い。この課題に関する重要な論文が、De Groot et al., *Biomaterials* 1 (1980) 47およびBauer and Hohenberger, "Berichte der DKG" 66 (1989) 23に発表されている。

最近でも今まで通り普通に市場で入手できる多数の移植体材料には、TCP相とHA相と他のリン酸カルシウム相(例えば、リン酸二カルシウムまたはリン酸四カルシウム、およびリン酸カルシウムガラス)との未だにはっきりしない混合物が含まれているが、こうした移植体材料は、結合組織浸潤の誘発、炎症反応に伴って生じる可能性のあるマクロファージの活性化など、有害な生物医学的性質をもっている。このような欠陥のある組成を有する材料で結合組織を被包すると、移植

混合物を表し、Bは、好ましくは生分解性骨セラミックス、特に好ましくは α -または β -リン酸三カルシウムセラミックスを含む骨形成誘発性担体マトリックスを表す。Aは、共有結合することなくBと結びついており、例えば、骨貯蔵部においてBが化学的分解を起こす程度まで骨形成過程中にBからゆっくりとAを放出させることができる。従って、Aに対していわゆる制御放出が行われることになる。

このほか、Aはまた、上記のタンパク質またはタンパク質混合物をコードする

DNAを表すこともできる。場合により、DNAが変性しないように、当業者に周知の方法によって保護することもできる。周囲の組織中への放出の後、このようなDNAは、そこに存在する細胞または担体マトリックス中に移動した細胞によって摂取され、発現し、発現されたタンパク質またはタンパク質混合物は活性物質として作用することができる。

従って、DNAは、好ましくは発現の誘発または促進を行う配列と関連づけされる。発現は、特に、細胞ゲノム中に特異的な組換えを導入することにより、すなわち、細胞の配列の制御下でタンパク質の産生を引き起こす部位に導入することにより促進させることができる。

一方、DNAはまた、好適な発現ベクター上で使用することもできる。

「軟骨誘導活性および／または硬骨誘導活性を有するTGF- β スーパーファミリーのタンパク質」という用語は、その成熟部分中に特徴的な7個の保存システインが含まれるタンパク質を意味する。これには、TGF- β のメンバー、アクチビン、BMPおよびGDFファミリー、特にMP52、ならびに基本的に同一の活性を有するそれらの断片が含まれる。対応するヌクレオチドおよびタンパク質の配列は、前述の引用文献中に記載されている。こうした文献中の開示内容は、本明細書に含まれるものとする。好ましくは、これらの物質としては、上記のタンパク質のホモ二量体、更に、種々のファミリーメンバーのヘテロ二量体が挙げられる。好ましくは、BMPファミリーおよび／またはGDFファミリーのメンバー、特にMP52と同じレセプター機構および／または同じシグナル伝達を有するタンパク質が含まれる。これにはまた、軟骨誘導活性および／または硬骨誘導活性を有するTGF- β ス

本発明の複合体中のタンパク質または該複合体によりコードされるタンパク質には、置換または挿入されたアミノ酸が含まれていてもよく、あるいは欠損があってもよいが、この場合にもまた、活性が有意な影響を受けてはならない。これらのタンパク質は、ヒト、マウス、ラット、ウシ、またはブタのような様々な種から単離することができる。更に、当該技術分野で周知の方法、例えば、グリコシル化、リン酸化、硫酸化、および脂肪とのエステル化によってタンパク質を改質することもできるが、この場合にもまた、これにより活性に有意な変化を生じてはならない。

本発明の好ましい実施態様において、Aは、GDFもしくはBMPファミリーに由来するタンパク質またはそれらの断片である。

本発明の特に好ましい実施態様において、成分Aは、

- (a) 配列番号1に示されるタンパク質配列の成熟部分と、場合により、更に、機能性部分とを含有し、
 - (b) 本質的に同じ活性を有する(a)の成熟部分の一部分、特に改質N-末端を有する成熟タンパク質を含有し、
 - (c) 他の脊椎動物に由来するタンパク質を起源としている点が配列番号1とは異なるが、本質的に同じ活性を有する、(a)または(b)に対応する部分を含有し、
 - (d) (a)、(b)、または(c)の成熟タンパク質の一部分を含有するとともに、TGF- β スーパーファミリーに由来する他のタンパク質の一部分を融合タンパク質の形態で含有し、
 - (e) (a)～(d)の単量体成熟タンパク質を含有するとともに、TGF- β スーパーファミリー由来の他のタンパク質の単量体を、ヘテロ二量体を形成して含有し、
 - (f) (a)～(e)の二量体成熟タンパク質を含有するとともに、TGF- β スーパーファミリー由来の他のタンパク質の二量体を少なくとも1種含有する、
- タンパク質によって特性付けられる。

この実施態様では特に、成熟タンパク質MP52またはその機能性部分もしくは断片が含まれ、この場合の活性形態は、好ましくは二量体として存在する。7個の保存システインの領域を少なくとも含有する機能性領域またはセクションまたは

従って、この複合体は、2つの成分(すなわち、軟骨誘導性および／または硬骨誘導性のタンパク質またはタンパク質混合物と骨形成誘発担体マトリックス)の作用機構の有利な組合せに基づくものである。本発明のこのような移植体材料では、タンパク質Aの骨形成作用に対抗した増殖作用(生体適合性はあるが生体活性はない移植体材料の中にはこうした作用を呈するものがある)が回避される。この場合、HAのような担体材料は、生分解が遅いため、タンパク質刺激骨合成に応用するのに適していないことが多い。リン酸塩ガラス、ならびにCaPの準安定相または相混合物、更にまた例えば珊瑚から得られる化学的改質マトリックスの準安定相または相混合物のような迅速な生分解が可能な担体セラミックスは既にそれ単独で、マクロファージまたは／および破骨細胞の活性化が原因となって、タンパク質刺激骨合成に対抗した増殖作用を示す。更に、好適な担体材料のマトリックス表面をコラーゲンのような生理学的に不活性なタンパク質充填剤でコーテ

ィングすると、吸収に対する抑制作用を示すこと、従って、生体活性に対する抑制作用を示すことが判明した。驚くべきことに、マイクロ細孔型の相純粋なTCP(好ましくは β -TCP)をベースとした担体材料と、赤色骨髓または血液のホモジネートとの混合物では、マトリックス表面がタンパク質でかなり被覆された場合でも、骨合成が促進されることが分かった。従って、本発明の移植体材料では、これらの結果が最適化されている。成分Aであるタンパク質またはDNAによるマトリックスの被覆を最小限に抑えた場合、連続マイクロ細孔構造を介して必然的に成分Aを放出しかつ移植部位におけるマトリックスの化学的分解に対応する程度に生物学的に活性である担体マトリックスBの生体活性、すなわち、固有の骨形成誘発性が保持される。適切なマトリックスとの併用を行わなかった場合、代謝、体液による輸送、または食作用が原因となって、骨形成タンパク質Aだけが移植部位においてその生物学的活性を迅速に失うであろう。所定のマイクロ細孔構造を有する担体マトリックスの相純度によって予測可能な吸収が保証され、更にまた、タンパク質成分AまたはそれをコードするDNAの制御放出が保証される。マトリックスBとタンパク質Aとのこうした相互作用によって、2つの成分Aおよ

Chem. Soc. (1961)4442)に従って、圧縮成形体の形態でいくつかの工程を踏んで1350℃までの焼結温度で処理した。この処理では、焼結系から水およびCO₂が除去される。焼結プロセス間で、焼結合成の中間段階物を、微粉碎、超微粉碎、再圧縮の処理にかけて成形物を製造するか、またはペレット化して粒状物を製造する。焼結プロセスは、状態図に従ってTCPの共存隣接相(すなわち、特に、リン酸四カルシウムやリン酸二カルシウムの相)を回避すべく、時間および温度を調節して行われる。熱力学的に安定な β -Ca₃(PO₄)₂または β -TCPの準安定相については、目的とする用途に応じて焼結プロセスを調節することにより特に回避するか、または意図的に共存させるか、あるいは更に、主要生成物として単独で調製することが可能である。

担体マトリックスBの細孔構造中に成分Aを均一に導入および分布するには、成分自体を変化させることなくこうした分布を可能にするいくつかのタイプのプロセスが必要である。

従って、処理温度が高いため、セラミックスの焼結プロセスにおいて、AとBとを組み合わせると同時に使用することができないことは明らかである。

これとは対照的に、本発明に係るタンパク質AまたはそれをコードするDNAを適切な溶剤に溶解してなる溶液を成形物および粒状粒子の多孔質セラミックス

構造に浸透させることが可能である。この場合には、開放セラミックス構造の毛管力が効果的に働くようになる。もちろん、溶剤を選択する際は、生体材料の成分AおよびBの特性を変化させないものだけが考慮の対象となる。従って、例えば、酸性溶剤は、骨形成タンパク質に対しては優れた溶剤であるが、リン酸カルシウムを攻撃して化学的に改質するため、不適當である。一方、水は、セラミックスに対しては問題ないが、タンパク質成分Aの溶解が不完全になる可能性が高い。懸濁液を用いて浸透させる場合、ミクロ細孔構造が原因で、担体マトリックス中に均一に分布させることはできないであろう。

エバポレーションによって明らかに除去可能な溶剤相を用いて担体マトリックスに浸透させる方法においても、同様に、Bの中にAを完全に均一に分布させることはできない。なぜなら、多孔質セラミックスの表面から溶剤をエバポレート

ルで洗淨してもよい。

本発明に係る移植体材料の有効性は、従来の試験系、例えば、先に述べたラット、イヌ、ウサギ、または霊長類動物のモデル系で試験することができる。

従つて、本発明の更なる課題は、場合により、薬剤学的にも生理学的にも許容しうる補助物質、希釈剤、および／または充填剤と共に、移植体材料を含んでなる医薬組成物であり、更にまた、脊椎動物、特にヒトのような哺乳動物において、軟骨および／または硬骨の疾患の局所治療、および／または怪我、手術、退化、または過労によって生じる軟骨および／または硬骨組織に対する損傷の局所治療を行うために、場合により、薬剤学的にも生理学的にも許容しうる補助物質、希釈剤、および／または充填剤と共に、医薬として有効な濃度で本発明に係る複合体を使用することである。

本発明に係る複合体は、特に、例えば、年齢、代謝性疾患、または炎症性突起によって生じる骨欠損に関連した疾患を治療するために使用することができる。

軟骨または骨組織に対する損傷は、怪我(例えば、スポーツによる怪我)、事故、運動器官の使用過多の後で生じるか、または手術の結果として(例えば、人工固定具用のネジを除去した後に骨に残るドリルの孔により、または腫瘍組織の切除の後で)生じる可能性がある。骨折の特異的局所治療は特に好ましい。また、肢の伸長を行うこともできる。歯周病の治療、顎域におけるサイナスリフト(sin us lift)または嚢胞充填など、歯または顎域における利用は、特に興味深い。また、美容外科、特に、顔面域における形成外科でも利用される。本発明に係る複合体

はまた、2つの可動骨部分の固定に利用できる。例えば、新しく形成された架橋骨により2つの椎骨の結合を行うことができ、例えば、椎間板の障害に有利に利用することができる。こうした治療法は、獣医学にも適用される。

用量は、タンパク質成分のタイプおよび用途、患者の疾患および症状により、10 μ g~100mgの範囲である。担体マトリックスの量は、治療対象となる骨または軟骨の欠陥の大きさに依存する。

プレスされた大きな担体マトリックスを使用する場合、例えば、スチールロツ

も生成する(図1の4aおよび図2の4b)。

2つの移植体材料の有意な差異は、骨形成誘発性移植体材料(図2の4b)では、細孔の内側表面上に直ちにかつ自然発生的に骨が形成されること、核形成部位として担体マトリックスが使用されていること、およびその部位から移植体の全領域にわたり該マトリックスで満たされていることである。これとは対照的に、非生体活性材料(図1)では、細孔の中間部分を通して骨が非常にゆっくりと増殖し、移植体材料との直接的な接触は永久に起こらない。これらの差異の結果として、骨形成誘発性材料の場合には(図2)、非常に強力かつ迅速な複合体形成が行われ、破骨活性を伴う生体不活性な材料の場合には(図1)、遅く不完全な形成が行われる。

Pro Gly Gly Lys Ala Pro Pro Lys Ala Gly Ser Val Pro Ser Ser Phe
130 135 140

Leu Leu Lys Lys Ala Arg Glu Pro Gly Pro Pro Arg Glu Pro Lys Glu
145 150 155 160

Pro Phe Arg Pro Pro Pro Ile Thr Pro His Glu Tyr Met Leu Ser Leu
165 170 175

Tyr Arg Thr Leu Ser Asp Ala Asp Arg Lys Gly Gly Asn Ser Ser Val
180 185 190

Lys Leu Glu Ala Gly Leu Ala Asn Thr Ile Thr Ser Phe Ile Asp Lys
195 200 205

Gly Gln Asp Asp Arg Gly Pro Val Val Arg Lys Gln Arg Tyr Val Phe
210 215 220

Asp Ile Ser Ala Leu Glu Lys Asp Gly Leu Leu Gly Ala Glu Leu Arg
225 230 235 240

Ile Leu Arg Lys Lys Pro Ser Asp Thr Ala Lys Pro Ala Ala Pro Gly
245 250 255

Gly Gly Arg Ala Ala Gln Leu Lys Leu Ser Ser Cys Pro Ser Gly Arg
260 265 270

Gln Pro Ala Ser Leu Leu Asp Val Arg Ser Val Pro Gly Leu Asp Gly
275 280 285

Ser Gly Trp Glu Val Phe Asp Ile Trp Lys Leu Phe Arg Asn Phe Lys
290 295 300

Asn Ser Ala Gln Leu Cys Leu Glu Leu Glu Ala Trp Glu Arg Gly Arg
305 310 315 320

Ala Val Asp Leu Arg Gly Leu Gly Phe Asp Arg Ala Ala Arg Gln Val
325 330 335

His Glu Lys Ala Leu Phe Leu Val Phe Gly Arg Thr Lys Lys Arg Asp
340 345 350

【図1】

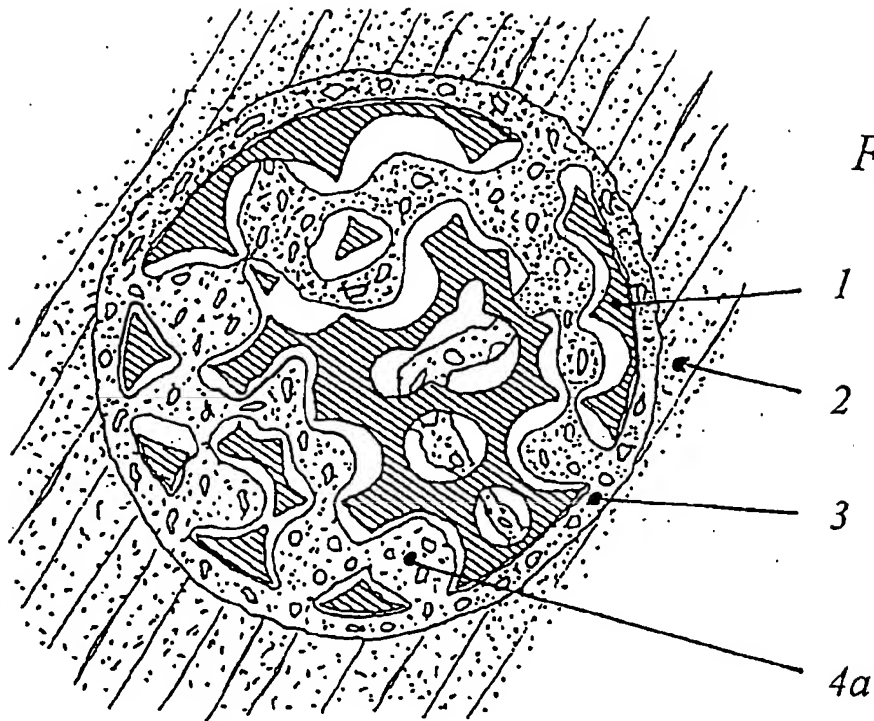


Fig. 1